N° 22. **H. Mislin** und **H. Helfer,** Mainz. — Vergleichende quantitativ-anatomische Untersuchungen an glatten Muskelzellen der Flughautgefässe (Chiroptera). — (Mit 3 Textabbildungen und 2 Tabellen.)

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Mainz.)

Die von uns schon früher (1947) festgestellte auffallende Ähnlichkeit im Wandbau der Flughautvenen- und Arterien bei den Mikrochiropteren und die von uns ebenfalls ermittelten bedeutenden Unterschiede der beiden Gefässarten hinsichtlich ihrer physiologischen Potenzen, legten eine Spezialuntersuchung über Form und Struktur der Gefässmuskelzellen nahe. Im folgenden wird vorerst nur über die Längenmesswerte der durch Mazeration isolierten Zellen aus Venen- und Arterienwand berichtet. Mit der Isolierung lebender Gefässmuskelzellen wurde eben erst begonnen, so dass wir uns hier auf die am konservierten Material gewonnenen Ergebnisse beschränken müssen.

Methodisch wurde so vorgegangen, dass die überlebenden isolierten Flughautgefässe von *Myotis myotis* B. und *Pteropus edulis* für drei bis sechs Stunden in die adaequate Ringerlösung eingelegt worden sind, um darin mit Bismarckbraun angefärbt zu werden. Die stark gefärbten Venen zeigten noch aktiven Puls. Ein Teil der isolierten Gefässe wurde ionalen Einflüssen ausgesetzt. Damit sollten Gefässe in verschiedenem Kontraktionszustand fixiert werden. Wir verwendeten Fixierungsflüssigkeiten mit extremen pH-Werten: Bouin'sches Fixierungsgemisch mit pH 1,4 und Neutralformol mit pH 7,7. Mazeriert wurde in 33% KOH nach der klassischen Methode. Die Längenmessungen der Muskelzellen betrafen Kollektive von jeweils mindestens 100 aus einer Venenwand und einer zugehörigen Arterienwand herausgelösten Zellen. Stets wurden mehrere entsprechende Zellkollektive von verschiedenen Stellen ein und derselben Vene bzw. Arterie und ebenfalls aus verschiedenen Patagiumabschnitten mehrerer Individuen verglichen. Aus jeweils 2000 Einzelmessungen ging deutlich hervor, dass die Gefässtopographie keinen Einfluss auf die Längenvariabilität der Gefäss-

muskelzellen hatte. Somit war das Zusammenfassen von Kleinkollektiven mit 100 Zellen zu grösseren Einheiten gerechtfertigt. Die von uns ermittelten Zellängen-Verteilungskurven ergaben Streuungsbereiche die für Arterien und Venen annähernd gleich waren, Abb. 1 und Tab. 1 und 2.

Bei unserer Methodenprüfung ergab sich, dass die Aufenthaltsdauer der isolierten Flughautgefässe in der Bismarckbraun-Ringerlösung selbst nach 72 Stunden ohne Einfluss auf den Mittelwert der

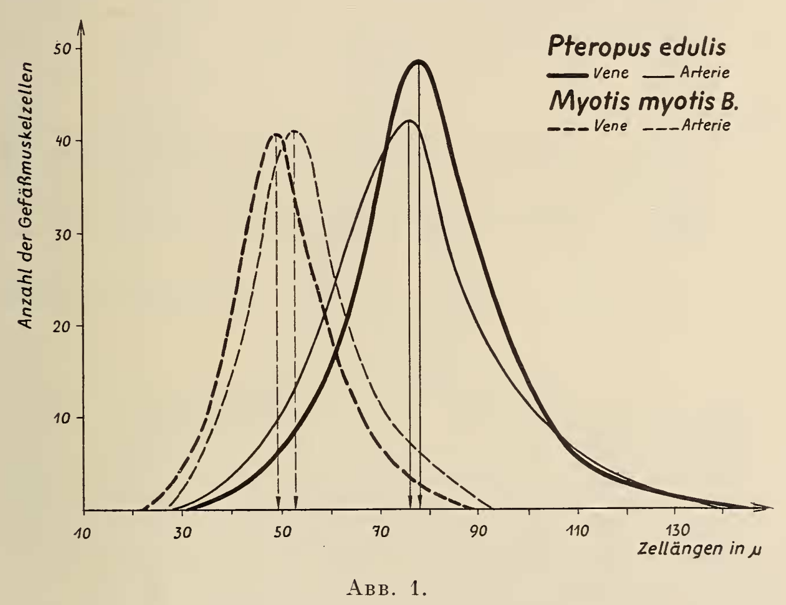


ABB. 1.
Verteilungskurven der Gefässmuskelzellen (Bouin).

Zellängen geblieben ist. Bei der Fixierungsdauer konnten wir zwischen 5 Stunden und 2 Monaten variieren, ohne dass der Mittelwert eine Veränderung erfahren hätte. Bei der Mazeration erwies sich die Zeit zwischen 3 und 6 Stunden als günstig. Bei sehr kurzer Mazerationszeit waren „Zellverklebungen" relativ zahlreich, während nach extrem langer Mazerationszeit, z. B. nach 48 Stunden, viele Zelltrümmer auftraten.

Zur Messung wurden die isolierten kernhaltigen Zellen mit deutlich erkennbaren spitzen Zellenden, bei 540-facher Vergrösserung projiziert und gezeichnet und mit einem Kurvenmesser

bei einer Messgenaunigkeit von $\pm 2\%$ gemessen. Für die Microchiropteren ergab sich, dass die Arterienmuskelzellen mit 53 μ geringfügig länger sind als die Venenmuskelzellen, die im Mittel

TABELLE 1.

Myotis myotis B.		Chiroptera-Ringer		Ringer-K		Ringer-Ca		Ringer+Kaliumoxalat	
		A	V	A	V	A	V	A	V
Bouin	Mittelwert ± 2%	53µ	49µ	72µ	56µ	61µ	58µ	56µ	57µ
	Variation	27µ → 92µ	19µ → 87µ	36µ → 108µ	36µ → 82µ	32µ → 95µ	32µ → 92µ	40µ → 78µ	36µ → 83µ
	Signifikanz	A >	V	A >	V	A >	V	A =	V
	Anzahl d.Zellen	800	800	100	100	100	100	100	100
	mittl.quadrat. Streuung	17µ	13µ	24µ	10µ	20µ	18µ	8µ	14µ
	Zunahme	1%=0,53	1%=0,49	+10% >	+3%	4% =	4%	+2% <	+4%
Formol	Mittelwert ± 2%	45µ	46µ	59µ	53µ	56µ	47µ	48µ	48µ
	Variation	22µ → 69µ	22µ → 68µ	33µ → 93µ	27µ → 76µ	36µ → 80µ	30µ → 66µ	29µ → 67µ	25µ → 75µ
	Signifikanz	A =	V	A >	V	A >	V	A =	V
	Anzahl d.Zellen	400	400	100	100	100	100	100	100
	mittl.quadrat. Streuung	8µ	7µ	17µ	11µ	10µ	8µ	7µ	15µ
	Zunahme	1%=0,45	1%=0,46	+6% >	+3%	+11% >	+1%	+1% <	+1%

Längenmessung der Gefäßmuskelzellen von Myotis myotis B. nach verschiedener ionaler Beeinflussung.

TABELLE 2.

Pteropus edulis	Chiroptera-Ringer		Ringer-Ca		Ringer+Kaliumoxalat		Ringer+Komplexon III	
Bouin	A	V	A	V	A	V	A	V
Mittelwert ±2%	77µ	79µ	83µ	79µ	83µ	81µ	79µ	88µ
Variation	27µ → 137µ	27µ → 141µ	12µ → 141µ	32µ → 143µ	31µ → 133µ	34µ → 148µ	31µ → 141µ	38µ → 139µ
Signifikanz	A <	V	A >	V	A >	V	A <	V
Anzahl d.Zellen	1000	1000	700	700	500	500	400	400
mittl.quadrat. Streuung	16µ	13µ	15µ	14µ	15µ	12µ	12µ	18µ
Zunahme	1%=0,77	1%=0,79	+8% >	+0%	+8% >	+3%	+3% <	+11%

Längenmessung der Gefäßmuskelzellen von Pteropus edulis S. nach verschiedener ionaler Beeinflussung.

49 μ erreichten. Messbeobachtungen an kleineren Kollektiven von je 100 Zellen ergaben ein weniger eindeutiges Ergebnis. Es hat sich gezeigt, dass hinsichtlich der Zellängen alle drei Möglichkeiten auftraten, dass also A gleich V, A grösser als V und A kleiner als V sein konnte, so dass die statistisch gesicherte Aussage, die Arterienmuskelzellen seien absolut grösser als die Venenmuskelzellen, problematisch blieb. Zur Entscheidung dieser Frage haben wir die

isolierten Gefässmuskelzellen einerseits in das Bouin'sche Fixierungsgemisch und andererseits in Neutralformol überführt. Beide Fixierungsmethoden ergaben grundsätzlich ein übereinstimmendes Resultat. Es fiel lediglich auf, dass die Muskelzellen in Neutralformol eine etwas stärkere Verkürzung als in Bouin-Gemisch erfahren haben. Abb. 2 und Tab. 1.

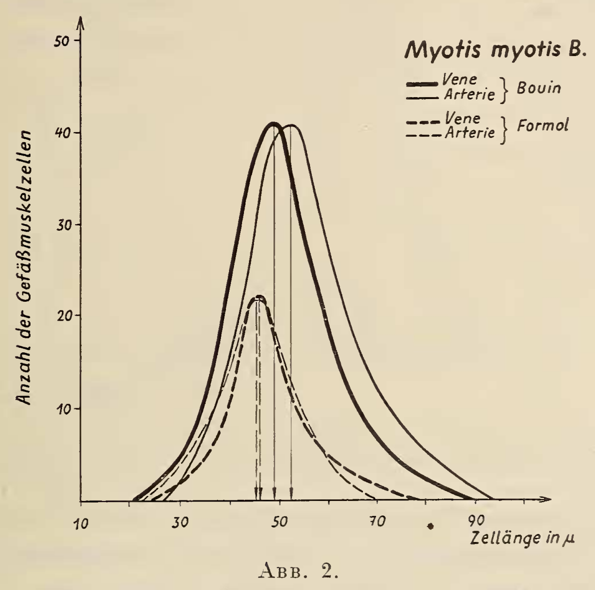


ABB. 2.

Verteilungskurven der Gefässmuskelzellen (Bouin und Neutralformol).

Bei früheren, bis jetzt noch nicht veröffentlichten Untersuchungen, haben wir an der isolierten Flughautvene (Präparat des Venensäckchens 1949) deutliche ionale Effekte ermittelt. Dieselben waren jedoch nur an Gefässen mit einer besonderen Funktionsbereitschaft zu erzielen. Unter diesen Umständen erhielt man einen systolischen Ca-Effekt und einen diastolischen K-Effekt. In K-freiem Ringer verengerte sich die Vene bis zu völligem Lumenschwund, während das Gefäss sich in Ca-freiem Ringer maximal dilatierte. Wie gesagt, konnte man diese antagonistischen Ionen-Wirkungen nur an einem Gefäss mit bestimmter Funktionsbereitschaft regelmässig beobachten.

Im Hinblick auf diese möglichen Ionen-Effekte haben wir den Standardringer variiert und die Vitalfärbungen der isolierten Gefässe in Ringer — K, Ringer — Ca, Ringer + Kaliumoxalat, Ringer

+ Komplexon III, Ringer + Komplexon III — K und Ringer + Oxalat — Ca vorgenommen. Abb. 3 und Tab. 1.

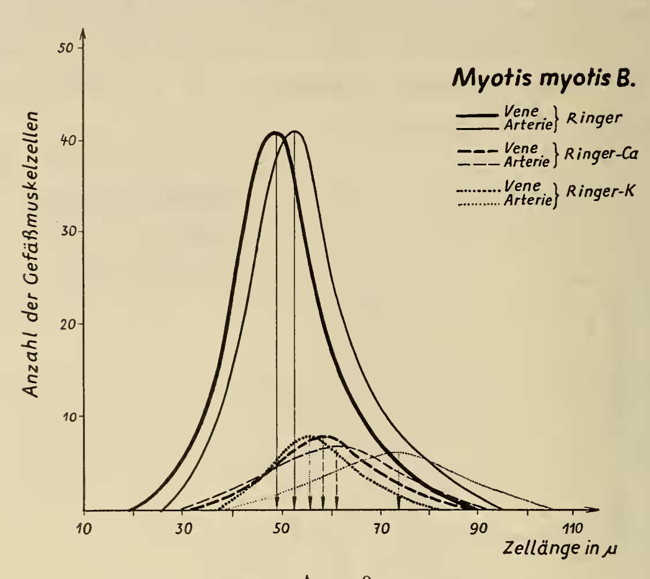


Abb. 3.
Verteilungskurven der Gefässmuskelzellen (Bouin nach ionaler Beeinflussung).

Die verwendeten Ionen-Mischungen sind, wie hier betont werden muss, nicht systematisch im Hinblick auf zu erzielende Ionen-Effekte vorgenommen worden, sondern lediglich, um zu prüfen, ob auch am toten Material, also nach Fixierung und Mazeration noch der Einfluss einer Vorbehandlung dieser Art am Gefäss wahrgenommen werden konnte. Es ergibt sich, dass Veränderungen der Gefässe, die zweifellos auf die ionale Vorbehandlung zurückzuführen sind, sich auch noch nach Fixierung und Mazeration bemerkbar machen. Und wir können daraus den Schluss ziehen, dass es sich bei den von uns erhaltenen Messwerten sicher nicht um ermittelte absolute Zellängen handeln kann, sondern um relative Zellängen in Abhängigkeit von einem bestimmten Verkürzungszustand der isolierten Muskelzellen. Der K-Effekt war auf die untersuchten Zellen stets verlängernd und an den Arterienmuskelzellen eindeutig stärker nachzuweisen. Aber auch die Ca-Ionen hatten auf die Muskelzellen einen verlängernden Einfluss. Das Ca-Ion verlängerte in der Regel die Arterienzellen stärker als die Venenzellen. Die Befunde lassen keine weiteren Aussagen zu.

Wir können nur an den Veränderungen der Zellängen feststellen, dass nach Beeinflussung mit Ionen eine Wirkung geschehen ist. Wir finden signifikante Unterschiede zu den Normalwerten, Verlängerungen der Muskelzellen von 77 μ auf 83 μ, also ca. 8%. Dieses Verhältnis zeigt sich z. B. bei den Megachiropteren, bei denen sich noch überdies gezeigt hat, dass die Venen-Muskelzellen und die Arterienmuskelzellen ca. doppelt so lang sind wie bei den Microchiropteren. Der Befund, dass die Venenmuskelzellen bei den Flughunden geringfügig länger waren als die Arterienzellen, kann damit zusammenhängen, dass der von uns verwendete Chiroptera-Ringer für die Flughunde in seiner ionalen Zusammensetzung ungenügend equilibriert war. In dieser Richtung laufen zurzeit weitere Versuche. Als Hauptergebnis halten wir fest: Die Muskelzellen der Flughautgefässe bei Micro- und Megachiropteren unterscheiden sich offenbar nur hinsichtlich der Grösse. Sie sind bei den Flughunden ca. 50% länger als bei den Kleinfledermäusen. Die Arterienmuskelzellen sind wahrscheinlich in keinem Fall absolut länger als die Venenmuskelzellen.

Die von uns gemessenen Zellängen scheinen in Beziehung zu stehen zu einem bestimmten physiologischen Verkürzungszustand, den wir jeweils in unserem Zellkollektiv gerade erfasst haben (3+4). Nur so also wären die Arterienzellen im Mittel länger als die Venenzellen. Zur eigentlichen Erfassung der Ionen-Wirkungen auf die Zellängen werden zurzeit Flughautgefässe nur dann fixiert bzw. mazeriert, an denen eindeutige systolische bzw. diastolische Extremzustände im Versuch bereits erzielt werden konnten.

Wir danken Fräulein **L. Riesterer** und dem Technischen Assistenten Herrn **W. Kaffrell** für ihre zuverlässige Mitarbeit bei der Ausarbeitung des grossen Zellmaterials.

LITERATUR

1. Kl. Goertler und G. Grupp. 1956. *Über die Ausmessung glatter Muskelfasern zur Feststellung ihres Kontraktionszustandes.* Z. Zellforsch. 44: 191-207.
2. G. Grupp und Kl. Goertler. 1958. *Herbeiführen und Fixieren verschiedener Kontraktionszustände glatter Muskelfasern.* Z. f. wiss. Mikroskopie + mikr. Technik 63: 397-418.
3. H. Mislin. 1947. *Das Präparat des Venensäckchens.* Helv. Physiol. Acta 5, C3-C4.
4. H. Mislin und M. Kauffmann. 1947. *Beziehung zwischen Wandbau und Funktion der Flughautvenen (Chiroptera).* Rev. suisse Zool. 54, Nr. 8, 240-245.